Gedruckt mit Unterstützung aus dem Jerome und Margaret Stonborough-Fonds

Untersuchungen über den Einfluß der Wasserstoffionen auf das Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare* L.

II.

Von

Siegfried Strugger

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

(Mit 7 Textfiguren)

(Vorgelegt in der Sitzung am 16. Februar 1928)

Einleitung.

Im ersten Teile dieser Untersuchungen (Strugger, 1926) wurde die Einwirkung der C_H auf das Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare* L. im Konzentrationsbereiche p_H 6·80 bis 5·50 studiert. Es zeigte sich, daß die Wasserstoffionen sowohl die sichtbare Struktur der Plasmakolloide als auch die Geschwindigkeit der Protoplasmaströmung in erheblichem Maße beeinflussen. Die Abhängigkeit dieser Veränderungen steht nicht zu der Wasserstoffionenkonzentration in einem linearen Verhältnis, sondern es zeigten sich zweigipfelige Kurvenbilder. In Vorversuchen konnte auch der Nachweis erbracht werden, daß die Maxima und Minima dieser Kurven je nach den Bedingungen, insbesondere nach der Azidität des Substrates, unter welchen die Versuchspflanzen sich entwickelt haben, verschiebbar sind. Ist das Substrat sauer, so zeigt sich gegenüber den Pflanzen, welche auf neutralem Substrat aufgewachsen waren, eine Verschiebung der Kurve nach der sauren Seite. Ein ähnliches Verhalten konnte Hopkins (1926) an *Amoeba proteus* beobachten.

Im allgemeinen scheint man zur Ansicht zu neigen, daß das Plasma um den Neutralpunkt (p_H 6·80 bis 7·50) sich gegen eine Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration mehr oder weniger indifferent verhält.

Ülehla (1923) fand bei *Spirogyra*zellen eine physiologisch bemerkbare Schädigung in allen H-Ionenkonzentrationen von p_H 7 abwärts.

Sakamura und Loo (1925) stellten die Tatsache fest, daß die Viskosität des *Spirogyra*protoplasten von den H-Ionen im Bereiche des Neutralpunktes sehr stark beeinflußt wird.

Arrhenius (1926) erwähnt, daß auch eine Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration von 0·1 p_H auch im p_H Optimum

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

genügt, um einen bemerkbaren Einfluß auf das Wachstum vieler Kulturpflanzen auszuüben.

Außer diesen Autoren sind die Angaben über diesen Punkt oft sehr unklar und eine systematische Untersuchung wurde bis etzt noch nicht vorgenommen. Aus diesem Grunde erschien es sehr wichtig, das Verhalten des Protoplasmas gegenüber den Wasserstoffionen um den Neutralpunkt zu studieren.

Es handelt sich dabei um eine Frage, der ein allgemein biologisches Interesse zukommt. Die Mehrzahl der Lebensmedien (Meerwasser, zum großen Teil Süßwasser; Blut, Körpersäfte, zum großen Teil Boden) haben eine in der Nähe des Neutralpunktes gelegene C_H.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Karl Linsbauer für alle Anregung und Hilfe an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

I. Morphologische Untersuchungen.

a) Methodisches.

Bei den nachfolgenden Versuchen bediente ich mich derselben Methodik, die sich bei meinen ersten Versuchen bewährte. Sie ist im ersten Teil dieser Arbeit eingehend erörtert. Ich beschränke mich darauf, ihr Prinzip nochmals kurz zu wiederholen.

Die Samen der Versuchspflanze (*Hordeum vulgare* L.), von der nur reinrassiges Material (*Nolc imperial*) verwendet wurde, wurden unter den im ersten Teil beschriebenen Vorsichtsmaßregeln in Lösungen von konstanten p_H gequollen und angekeimt. Die jungen Wurzeln wurden sorgfältig auf den Objektträger in einen Tropfen des Puffergemisches gelegt und sofort mit Hilfe des Zeiß'schen Paraboloidkondensors der Dunkelfelduntersuchung unterworfen. Die Einzeluntersuchung selbst erstreckte sich nur auf einen Zeitraum von sechs bis zehn Minuten.

Die Genauigkeit und Tragweite solcher Untersuchungen hängt im wesentlichen von zwei Faktoren ab.

1. Von der Art und Weise der Herstellung und der Zusammensetzung der Puffergemische.

2. Von der Auswertung und deskriptiv-quantitativen Festlegung der morphologischen Befunde.

Ad 1. Im ersten Teile dieser Untersuchungen wurde der Natriumacetat-Essigsäurepuffer nach Michaelis angewendet. Mit Hilfe dieses Gemisches ist es aber nur möglich, Konzentrationen von p_H 6·80 abwärts herzustellen. Folglich mußte ein anderes Puffergemisch verwendet werden. Es wurde das Phosphatgemisch nach Michaelis gewählt, wobei primäres und sekundäres Kaliumphosphat verwendet wurde. Die Konzentrationsverhältnisse dieser beiden Salze in den verwendeten Puffern ergeben sich aus nachstehender Tabelle.

Die Zusammensetzung der verwendeten Puffergemische.

p_H ——→	6·80–6·85	6·85–6·90	6·90–6·95	6·95–7	7–7·05	7·05–7·10	7·10	7·15	7·25	7·25–7·30	7·35	7·40–7·45	7·50–7·55
I in cm^3	17	15	13	11	10	9	8		6		4	3	
II in cm^3	25	25	25	25		25			25		25	25	
H_2O in cm^3	208	210	212	214	215	216	217	218	219	220	221	222	

Stammlösung I ist eine $^1/_3$ gewichtsmolare Lösung von primären Kaliumphosphat (Merk nach Sörrensen). Stammlösung II ist eine $^1/_3$ gewichtsmolare Lösung von sekundärem Kaliumphosphat (Merk). Das Wasser wurde frisch destilliert und außerdem zum Vertreiben der Kohlensäure ausgekocht und unter Na-Kalkabschluß aufbewahrt. Die Wasserstoffionenkonzentration des verwendeten Wassers wurde jedesmal kontrolliert. Die Herstellung der Puffergemische geschah auf folgende Weise: Stammlösung II war in jedem Puffergemisch in konstantem Volumen zugegen. Stammlösung I wurde je nach der Wasserstoffionenkonzentration variiert. Mit einer entsprechenden Menge Wasser wurde das Gemisch auf ein bestimmtes Volumen (250 cm^3) aufgefüllt. Die Puffergemische wurden in paraffinierten Puffergefäßen aufbewahrt und niemals länger als vier bis fünf Tage verwendet. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgte mit einem Doppelkeilkolorimeter nach Hiltner, welches eine Genauigkeit von 0·05 p_H zuläßt.

Ad 2. Es wurden drei noch später zu beschreibende Grundtypen der Veränderungen des morphologischen Bildes des Wurzelhaarplasmas, hervorgerufen durch die Wasserstoffionen, festgelegt, denen nicht nur rein deskriptiver, sondern auch physikochemischer Charakter zukommt. Bei jeder Untersuchung wurden diese Grundtypen statistisch aufgenommen und aus der Gesamtheit dieser Zahlenstatistiken die Berechnung der Prozentzahlen für die einzelnen p_H-Gebiete vorgenommen. Aus der zahlenmäßigen Erfassung der morphologischen Verhältnisse ergab sich der Vorteil, die Ergebnisse graphisch darstellen zu können.

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Auf diese Weise gelang es, das subjektive Moment bei der Beobachtung und Auswertung der Resultate tunlichst auszuschalten.

b) Vorversuchsreihen.

Im ersten Teile dieser Untersuchungen wurde mit Hilfe der oben erörterten Methodik die Einwirkung der H-Ionen auf das Protoplasma der Wurzelhaare im p_H-Bereiche 6·80 bis 5·50 eingehend analysiert. Dabei kamen zwei Hauptresultate zum Vorschein:

I. Es zeigte sich, daß man alle Veränderungen des morphologischen Bildes der Wurzelhaare auf drei Grundtypen zurückführen kann.

II. Die Reihe der Veränderungen geht mit steigender Wasserstoffionenkonzentration nicht linear vor sich, sondern das Plasma reagiert in Form einer zweigipfeligen Kurve.

Ad I. Es konnten folgende charakteristische Stadien unterschieden werden:

1. Das primäre Vakuolenstadium.[1]

Untersucht man die Haare in schwach alkalischem Leitungswasser, so zeigt sich das in Fig. 1 (*a*) schematisch dargestellte Bild. Man kann zwei Vakuolenbildungen unterscheiden. Die große Zentralvakuole, welche sich vom Kern, der hinter der Spitze des Haares liegt, zentral durch das ganze Haar hindurchzieht. Das Plasma bildet hier einen schlauchförmigen Wandbelag. Zwischen der Spitze und der Plasmaansammlung um den Kern liegt die kleine apikale Vakuole. Dies ist das normale Bild des Wurzelhaares, welches als primäres Vakuolenstadium bezeichnet wird.

2. Das Übergangstadium.[2]

Es tritt bei Einwirkung weniger schädigender Wasserstoffkonzentrationen auf. Charakterisiert ist es dadurch, daß die apikale Vakuole verschwunden ist und das Plasma die ganze Spitzenpartie des Haares einnimmt. Siehe Fig. 1 (*b*).

3. Das sekundäre Vakuolenstadium.[3]

Bei der Einwirkung stark schädigender Wasserstoffionenkonzentrationen wird die große Zentralvakuole durch eine mehr oder weniger große Anzahl von Plasmapfropfen in kleinere Vakuolen zerlegt. Siehe Fig. 1 (*c*).

Zugleich mit dem Auftreten dieser Bilder tritt, wie im Dunkelfelde zu sehen ist, eine Vermehrung der Mikrosomen ein. Beim pr. Vak. St. ist der Körnchengehalt des Protoplasmas sehr gering. Das Üb. St. ist schon mikrosomenreicher. Das sek. Vak. St. ist durch einen überaus großen Mikrosomenreichtum ausgezeichnet. Körnchenfreies Ektoplasma konnte in Übereinstimmung mit Lepeschkin (1925) in den Wurzelhaaren nicht beobachtet werden.

---

[1] Abgekürzt: pr. Vak. St.
Üb. St.
sek. Vak. St.

Mit der Zunahme des Körnchengehaltes in der Reihe pr. Vak. St.—Üb. St.—sek. Vak. St. geht auch eine entsprechende Zunahme des Plasmavolumens und eine Abnahme der Plasmaströmungsgeschwindigkeit vor sich.

Diese Befunde lassen die morphologische Einteilung nicht nur vom deskriptiven Standpunkte aus berechtigt erscheinen, sondern sie zeigen, daß diese Grundtypen in physiko-chemischen Veränderungen der Plasmakolloide ihre Ursache haben.[1]

Ad II. Alle diese Veränderungen gehen in zwei Perioden vor sich.

Von p_H 6·80 bis 6·40 erstreckt sich das pr. Vak. St.

Von p_H 6·40 bis 6·25 das Üb. St.

b

Fig. 1. Die drei Grundtypen der morphologischen Veränderungen der Wurzelhaare durch die H-Ionen.

Von p_H 6·25 bis 6·15 das sek. Vak. St.

Von p_H 6·15 bis 6·10 das Üb. St.

Von p_H 6·10 bis 5·90 tritt wieder das normale pr. Vak. St. zutage.

Von p_H 5·90 bis 5·60 zeigt sich wieder zunächst das Üb. St. und ab p_H 5·80 das sek. Vak. St.

Dies sind im wesentlichen die wichtigsten Ergebnisse der Untersuchungen mit dem Acetatgemisch. In bezug auf nähere Daten verweise ich auf den ersten Teil dieser Arbeit.

Zunächst war es von Wichtigkeit, die Frage experimentell zu lösen, ob auch bei Einwirkung von Phosphatpuffergemischen im p_H-Bereiche 6·80 bis 5·60 das Protoplasma der Wurzelhaare in oben beschriebener Weise reagiert. Der Entscheidung dieser Frage kommt nicht nur rein methodisches Interesse zu, sondern sie

[1] Man beachte auch die im I. Teile publizierten Mikrophotographien.

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

ist auch für die theoretische Auslegung der Befunde von ganz besonderer Bedeutung.

In p_H 6·60 zeigte es sich, daß von 78 untersuchten Haaren 74 das pr. Vak. St. und 4 Haare das Üb. St. und sek. Vak. St. zeigten. Von diesen 4 Haaren kann man nach meiner Erfahrung annehmen, daß sie entweder durch die Präparation geschädigt oder a priori bereits nekrobiotisch waren. Es herrscht somit in dieser Wasserstoffionenkonzentration das pr. Vak. St. vor. Der Mikrosomengehalt ist ein geringer. Nur in bezug auf die Plasmoptysen verhalten sich die Haare verschieden gegenüber den Acetatpufferversuchen. Der Kern ist im Dunkelfelde nicht sichtbar.

p_H 6·50. In den meisten Fällen ist die apikale Vakuole verschwunden. Das pr. Vak. St. ist noch häufig zu beobachten. Kern schwach sichtbar, durch Zusatz von 5 cm^3 II zum Puffergemisch wurde p_H 6·60 erreicht. Dann zeigte wieder die Mehrzahl der Haare (20 von 22) das pr. Vak. St.

In p_H 6·20 konnte analog den Befunden mit dem Acetatgemisch der typische Übergang zum sek. Vak. St. beobachtet werden. Der Mikrosomengehalt des Plasmas war überaus groß.

p_H 5·80 bis 5·85. Das pr. Vak. St. ist vorherrschend. Auch Üb. St. sind zu beobachten (vgl. I. Teil der Arbeit).

Durch Zusatz von 1 cm^3 II zum Puffergemisch erreichte dieses p_H 5·90. In dieser Wasserstoffionenkonzentration konnte durchwegs pr. Vak. St. beobachtet werden. Es zeigten sich bedeutend weniger Mikrosomen als in p_H 5·80 bis 5·85. Auch waren dieselben größer und hoben sich einzeln vom dunklen Hintergrund des Protoplasten ab.

Diese vier Versuchsreihen wurden mit Puffergemischen durchgeführt, in denen die beiden Komponenten (primäres und sekundäres Kaliumphosphat) in fast gleichen Konzentrationsverhältnissen zugegen waren.

Versuche mit Puffergemischen, in denen die eine oder die andere Komponente in vorherrschender Konzentration zugegen war, ergaben zwar qualitativ das gleiche Resultat, nur in quantitativer Hinsicht zeigten sich geringere Differenzen. Auf diese Verhältnisse wird noch in der Diskussion näher eingegangen werden. Diese Versuche waren bereits imstande, die oben aufgeworfene Frage eindeutig zu beantworten.

Die Veränderungen der morphologischen Struktur gehen bei Einwirkung von Phosphatgemischen prinzipiell in gleicher Weise vor sich als bei Einwirkung von Acetatgemischen, abgesehen von kleinen quantitativen Differenzen, welche sich aus der Anionenwirkung je nach der Zusammensetzung des Puffergemisches ergeben. Aus den oben angeführten Versuchen sieht man also, daß sowohl die Ausflockungsminima als auch die Ausflockungsmaxima ganz den Resultaten, wie sie im ersten Teile dieser Schrift eingehend beschrieben sind, entsprechen.

Gleich bei den ersten Vorversuchen in p_H 6·85 bis 6·90 wurde die überraschende Festellung gemacht, daß das Protoplasma nicht, wie erwartet, das normale Bild zeigt, sondern, daß neben dem pr. Vak. St. auch sehr häufig Üb. St. und sek. Vak. St. auftraten. Desgleichen war die Mikrosomenzahl eine bedeutend größere als in p_H 6·80. So z. B. zeigten in p_H 6·85 bis 6·90 von 54 untersuchten Haaren 17 pr. Vak. St., 23 Üb. St. und 14 sek. Vak. St.

In p_H 6·90 war das sek. Vak. St. durchwegs vorherrschend. Das Plasma leuchtete im Dunkelfelde hell auf und war fast erstarrt; die Anzahl der Mikrosomen war eine sehr große. Von 76 Haaren zeigten 14 pr. Vak. St., 15 Üb. St. und 47 sek. Vak. St.

Schon diese Vorversuchsresultate wiesen darauf hin, daß das Protoplasma gegen den Neutralpunkt hin sich gegenüber den H-Ionen nicht indifferent verhält, sondern daß die Art und Weise der Reaktion des Protoplasten ähnlicher Natur sein muß, wie ich es für den Bereich p_H 6·80 bis 5·60 gefunden habe. Wir wollen uns zunächst die gefundenen Tatsachen vor Augen führen und erst in der Diskussion auf die inneren Zusammenhänge näher eingehen.

Die Statistiken wurden in folgender Weise gewonnen: Zur Untersuchung kamen nur Wurzelhaare, die im großen und ganzen auf der gleichen Entwicklungsstufe standen, um etwaige Fehlerquellen, die durch Beobachtung und Vergleich verschiedenaltriger Haare entstehen können (Jurišić, 1925) zu vermeiden. Dies wurde praktisch dadurch erreicht, daß bei Verwendung derselben Vergrößerung das Präparat von der Wurzelspitze an solange verschoben wurde, bis die Wurzelhaare etwas länger als das Gesichtsfeld waren. An allen Haaren des Gesichtsfeldes wurden dann die Zählungen vorgenommen. Aus diesen Zählungen sind die Prozentzahlen für die einzelnen Stadien ermittelt worden. Ich betone hier nochmals, daß nur Veränderungen in diesen Versuchen studiert wurden, welche in einem Zeitraum von sechs bis zehn Minuten vor sich gehen. Auch bei längerer Einwirkungsdauer (bis 20 Minuten) treten jedoch keine wesentlichen Änderungen des Bildes auf.

c) Resultate.

In p_H 6·80 bis 6·85 zeigen von 100 Haaren 7 pr. Vak. St., 26 Üb. St. und 42 sek. Vak. St. (Die von 100 fehlenden Haare zeigten Plasmoptyse, vgl. den Abschnitt über die Plasmoptyse.) Man sieht, daß unmittelbar durch eine Erniedrigung der Wasserstoffinonenkonzentration um 0·05 das morphologische Bild des Protoplasmas wesentlich verändert wird. In p_H 6·75 bis 6·80 ist das Plasma noch vollständig normal, das pr. Vak. St. herrscht vor.

Verringert man die Wasserstoffionenkonzentration auf p_H 6·90, so herrscht ganz entschieden das sek. Vak. St. vor. Von 100 unter-

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

suchten Haaren zeigen im Mittel nur 3 das pr. Vak. St., 26 das Üb. St. und 58 das sek. Vak. St. In vielen Haaren ist das Plasma gelartig erstarrt. Die einzelnen Körnchen heben sich aus der leuchtenden Protoplasmamasse kaum ab.

In p_H 6·90 bis 6·95 nimmt die Prozentzahl der pr. Vak. St. wieder zu. 11% der Haare haben pr. Vak. St., 33% Üb. St. und 45% sek. Vak. St. Ein Großteil der Haare zeigt noch ein stark gelartiges Plasma. Die Brown'sche Molekularbewegung der Mikrosomen ist sehr träge.

Im p_H-Bereiche 6·95 bis 7·00 ist das Aussehen des Protoplasmas wieder ein normales. Es leuchtet weniger stark, ist dünnflüssiger und der Mikrosomengehalt hat sich bedeutend verringert. 62% der Haare zeigen in dieser Konzentration pr. Vak. St., 16% Üb. St. und 9% sek. Vak. St.

In p_H 7·00 kommt das sek. Vak. St. wieder mehr zur Ausbildung, nur mehr 35% haben pr. Vak. St., 30% Üb. St. und 17% sek. Vak. St.

Verringert man die [H·] auf den Bereich p_H 7·00 bis 7·05, so tritt wieder eine Ausflockungstendenz ein. 23% zeigen pr. Vak. St., 36% Üb. St. und 34% sek. Vak. St. Das Protoplasma erscheint in vielen Haaren zähflüssiger. Auch eine Zunahme der Mikrosomenzahl und des Plasmavolumens ist zu beobachten.

Bei einer weiteren Verminderung der Wasserstoffionenkonzentration ist das Resultat ein sehr überraschendes. Die Ausflockungstendenz ist vollständig in den Hintergrund getreten. Das Plasma ist wieder flüssiger, körnchenärmer, die morphologische Struktur wieder normaler geworden. 51% der Haare zeigen im Bereich p_H 7·05 bis 7·10 wieder das pr. Vak. St., 33% das Üb. St. und nur 5% das sek. Vak. St. Dieses Normalerwerden schreitet nun bei wechselnder Konzentration weiter.

In p_H 7·10 haben 70% pr. Vak. St., 14% Üb. St., 4% sek. Vak. St.

In p_H 7·15 bis 7·20: 68% pr. Vak. St., 5% Üb. St., 0% sek. Vak. St. In diesem schwach alkalischen Konzentrationsbereich ist das Protoplasma frei von jeder sichtbaren Beeinflussung durch die H-Ionen (die Plasmoptysen ausgenommen). Die Körnchenzahl ist im Minimum.

Von p_H 7·25 an zeigt das Plasma wieder eine deutlich ausgeprägte Ausflockungstendenz. In dieser Konzentration sind 38% pr. Vak. St., 40% Üb. St. und 11% sek. Vak. St. Das Plasmavolumen und der Körnchengehalt ist wieder in Zunahme begriffen.

Bei steigendem p_H-Wert nimmt nun die Ausflockung immer mehr zu.

In p_H 7·25 bis 7·30: 24% pr. Vak. St., 28% Üb. St. und 25% sek. Vak. St.

In p_H 7·35: 7% pr. Vak. St., 28% Üb. St. und 55% sek. Vak. St. In dieser Konzentration ist das dritte Maximum der H-Ionenwirkung erreicht. Hier zeigt sich wieder die Erscheinung,

daß das Plasma gelartig erstarrt ist. Nicht nur die Haare mit sek. Vak. St. zeigen diese Erscheinung, sondern auch die übrigen Stadien.

In p_H 7·40 bis 7·45: 15% pr. Vak. St., 26% Üb. St., 40% sek. Vak. St.

In der letzten untersuchten Konzentrationsstufe p_H 7·50 bis 7·55 zeigen im Durchschnitt 40% pr. Vak. St., 31% Üb. St. und 9% sek. Vak. St.

Das Diagramm (Fig. 2) stellt die Einwirkung der Wasserstoffionen auf die morphologische Struktur des Plasmas graphisch dar.

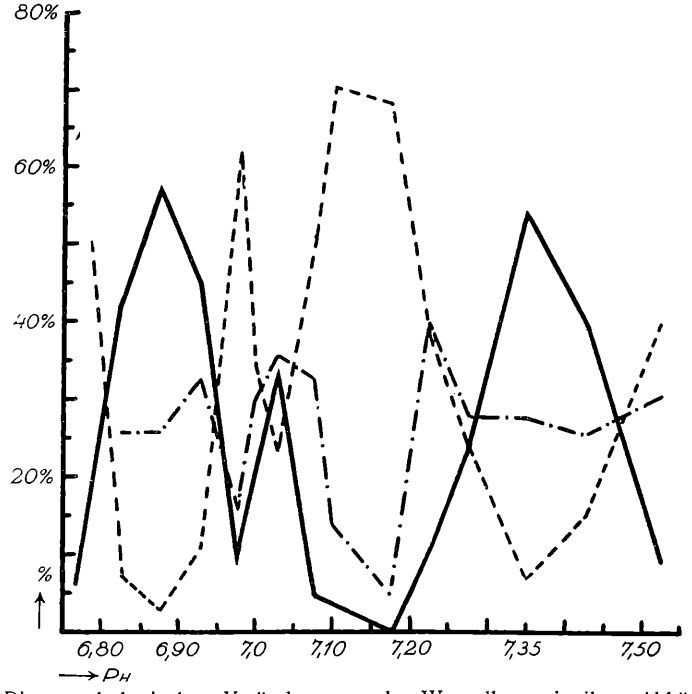

Fig. Die morphologischen Veränderungen der Wurzelhaare in ihrer Abhängigkeit von der C_H.

——— = sek. Vak. St. (Ausflockung). - - - - - = pr. Vak. St. —·—·— = Übergangsstadium.

Die ausgezogene Kurve des sek. Vak. St. gibt uns zugleich den Grad der Ausflockung des Protoplasten an. Im Gebiete der 3 Maxima ist das Plasma überdies mehr oder weniger in einem gelartigen Zustande. Wo diese Kurve ihre 3 Minima zeigt, ist das Plasma am optisch leersten und im Solzustand. Außerdem gibt der Verlauf dieser Kurve auch das Verhalten des Plasmas in bezug auf die Veränderung seines Volumens an. Offenbar handelt es sich hier um ein Quellungsphänomen. Im Gebiete der Maxima ist das Plasmavolumen am größten, im Gebiete der Minima am kleinsten.

Die gestrichelte Kurve zeigt die Abhängigkeit der Prozentsätze des pr. Vak. St., also des normalen Habitus von der C_H an. Sie

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

ist in bezug auf die Ausflockungskurve in allen Einzelheiten gegenläufig, was ja auch theoretisch zu erwarten war.

Die strichpunktierte Kurve des Übergangsstadiums folgt im wesentlichen der des sek. Vak. St. Sie hält sich quantitativ zwischen den beiden Extremstadien, wodurch auch der Name und die morphologische Auffassung dieses Stadiums gerechtfertigt erscheint. Fig. 3 zeigt die Kurve des sekundären Vak. St. (Ausflockungskurve) mit den eingetragenen Fehlergrenzen. Die Streuung ist in den Gebieten der Maxima am größten. Es wird dadurch auch ein

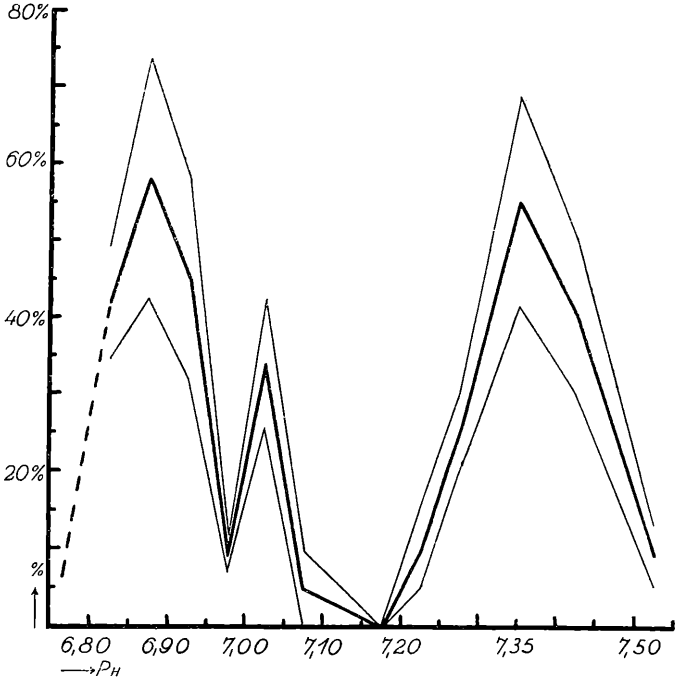

Fig. 3. Die Kurve des sek. Vak. St. (Ausflockungskurve) mit den eingetragenen Fehlergrenzen.

Ergebnis von Paál (1913) bestätigt, welches besagt, daß unter ungünstigen Bedingungen die individuellen Abweichungen bedeutend größer sind als unter günstigen.

Nun wollen wir aus diesen Kurven das Grundergebnis der morphologischen Untersuchungen zusammenfassen.

Das Protoplasma reagiert um den Neutralpunkt auf eine Veränderung der C_H in Form einer dreigipfeligen Kurve. Es treten drei ziemlich scharf umrissene Ausflockungsmaxima auf, in denen der Protoplast sich in einem gelartigen Zustande befindet. Im Neutralpunkte selbst ist das Plasma keineswegs normal,[1] sondern

[1] Unter normal ist in diesem Falle das primäre Vak. St. verstanden, welches unter den günstigsten Bedingungen zu beobachten ist. So z. B. das Bild der Haare, welches sich in $p_H 7 \cdot 20$ ergibt, wobei auch die individuellen Abweichungen ein Minimum erreichen.

gerade in diesen zeigt sich das mittlere schwächer ausgeprägte Maximum der Ausflockung. Am normalsten tritt uns das Plasma in schwach alkalischer Konzentration (p_H 7·10 bis 7·20) entgegen. In diesem Bereiche sind überhaupt keine Zeichen der H-Ionenwirkung zu beobachten.

Eine genauere Erörterung über die drei morphologischen Grundtypen und über ihren Wechsel erfolgt erst im Zusammenhange mit den übrigen Ergebnissen.

II. Die Abhängigkeit der Protoplasmaströmung von der Wasserstoffionenkonzentration.

Im ersten Teile dieser Untersuchungen wurde der Nachweis erbracht, daß zugleich mit den charakteristischen morphologischen Veränderungen des Protoplasmas durch die H-Ionen auch die Protoplasmaströmung beeinflußt wird. Diese Beeinflussung geht in folgender Weise vor sich: Nimmt der Grad der Ausflockung zu, so wird die Plasmaströmung unregelmäßig und langsamer. Nimmt der Grad der Ausflockung wieder ab, so wird die Strömung regelmäßig und schneller.

Es galt nun in vorliegenden Untersuchungen die Gültigkeit dieser Beziehung auch für den Bereich um den Neutralpunkt und für Phosphatgemische zu prüfen.

Methodisch wurde bei der Durchführung der Untersuchungen folgendermaßen vorgegangen: Gemessen wurde die Strömungsgeschwindigkeit an den hell aufleuchtenden Mikrosomen des Protoplasmas im Dunkelfelde mit Hilfe des für diese Untersuchungen hervorragend geeigneten Objektives 5 von Reichert ohne Trichterblende. Infolgedessen war das Dunkelfeld nicht vollkommen schwarz und die Einteilung des Okularmikrometers war gut sichtbar. Als Okular wurde, um eine entsprechende Vergrößerung zu erzielen, ein 18faches Kompensationsokular von Zeiß benützt. Mit Hilfe dieser Anordnung wurde die Zeit festgestellt, welche ein Mikrosom zur Zurücklegung von zehn Teilstrichen des Okularmikrometers brauchte.

Um etwaige Unregelmäßigkeiten möglichst auszugleichen, kam die statistische Methode zur Anwendung. Durch Voruntersuchungen und durch die Erfahrung, die ich schon im ersten Teile dieser Untersuchungen gesammelt hatte, kam ich zum Schluß, daß bei der Auswertung der Ergebnisse eine Genauigkeit von einer halben Sekunde vollständig genügt. Handelt es sich doch nur um die möglichst genaue Feststellung der Maxima und Minima der Strömungsgeschwindigkeit in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Das Zahlenmaterial wurde in folgender Weise gewonnen: An einem Präparate wurden an vier bis fünf

© Verlag Akademie der Wissenschaften, Wien; download unter www.biologiezentrum.at

$p_H = 7 \cdot 15$ bis $7 \cdot 20$. Allgemeiner Mittelwert = 2. Mittlerer Fehler = $\pm 0 \cdot 02$.

Messungsresultate (Zeit in Sekunden)	Die Messungen jeder Nebenkolonne stammen von einem Haar, die einer Hauptkolonne von einer Wurzel																
	1½	2	1½		2	1½	2¹	2	1½	1½	1½	2½	1½			2½	2
	2½	2	2½	2	2	2	2	2	1½	1½	1½	2½	2½	2¹		2	2
	2	2½		2	2	2	1½	1¹	1½	2	1½			2		2	2
	2	2	2	1½	2½	2	2		1½	1½		2½	2½	2	2	2	2
	2½		2½	2	2½	1¹	2	1½	1½	2	1½	2½		1½		2	2
Mittelwerte	2·1	2·1	2·1	2	2·2	1·8	2	1·8	1	1	1·6	2·4	1	2		2·1	

Wurzelhaaren je fünf Messungen bei einer Einwirkungsdauer von zehn Minuten vorgenommen. Für jeden p_H-Bereich sind viele derartige Messungen ausgeführt worden. Von jeder Reihe von Messungen an einem Wurzelhaar wurde der Mittelwert bestimmt und von allen erhaltenen Mittelwerten der allgemeine Mittelwert für ein p_H-Gebiet errechnet. Außerdem wurde noch mit Hilfe der Fehlerrechnung die Streuung bestimmt. Die Resultate der Fehlerrechnungen sind in Fig. 4 ersichtlich. Von den Protokollen bringe ich hier nur einen Auszug, der in deutlicher Weise dieses Vorgehen veranschaulichen soll.

Gerade in dieser in nebenstehender Tabelle angeführten Konzentration p_H 7·15 bis 7·20 sind die gefundenen Werte sehr konstant. In anderen viel wirksameren Konzentrationen zeigt die Strömungsgeschwindigkeit oft in ein und demselben Haare bedeutende Schwankungen.

Durch dieses Vorgehen konnten brauchbare und sichere Werte gewonnen werden. Die Versuche wurden in einem Raume durchgeführt, in welchem die Temperatur nicht allzu großen Schwankungen unterworfen war. Auch bei diesen Untersuchungen wurden möglichst gleichalterige Haare verwendet (vgl. Jurišić, 1925).

Es handelt sich hier um die primäre Protoplasmaströmung. Die Trennung in primäre und sekundäre Plasmaströmung stammt von Hauptfleisch (1892). Nach den neuesten Untersuchungen von Fitting (1927) soll jedoch in *Valisneria*-Zellen keine primäre Protoplasmaströmung existieren. Bei Wurzelhaaren ist diese Frage

noch nicht entschieden. Aus diesem Grunde halte ich in diesem Falle bei der alten Nomenklatur fest, da ich normalerweise in Wurzelhaaren immer Protoplasmaströmung beobachten konnte. Diese Feststellung ist sehr wichtig, da nach Bělehrádek (1924/25) die primäre Körnchenströmung des Plasmas von traumatischen und photischen Reizen unabhängig sein soll. Nur die sekundäre Plasmaströmung soll nach diesem Autor durch derartige Reize bedingt sein.

Zur anschaulichen Darstellung der Resultate bringe ich nachstehend eine graphische Darstellung der ganzen Verhältnisse.

Aus diesen Befunden lassen sich folgende Hauptresultate ableiten.

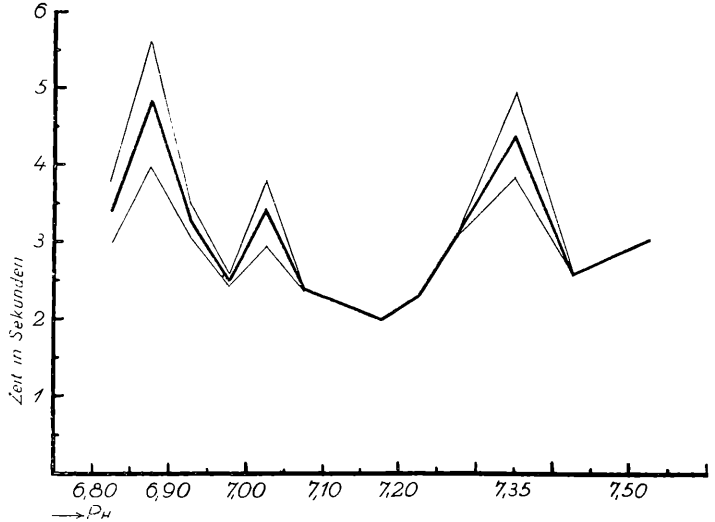

Fig. 4. Die Abhängigkeit der Plasmaströmungsgeschwindigkeit von der H-Ionenkonzentration. Die Fehlergrenzen sind eingetragen.

Die Geschwindigkeit der Protoplasmaströmung wird von den Wasserstoffionen im p_H-Bereiche 6·85 bis 7·55 in Form einer dreigipfeligen Kurve beeinflußt (Fig. 4). Das erste Minimum der Strömungsgeschwindigkeit liegt in p_H 6·85 bis 6·90, das zweite bedeutend weniger ausgeprägte in p_H 7·00 bis 7·05 und das dritte in p_H 7·35. Dazwischen sind in p_H 6·70 bis 6·80 das erste Maximum, in p_H 6·95 bis 7·00 das zweite, in p_H 7·15 bis 7·20 das dritte, in p_H 7·40 bis 7·45 das vierte Maximum gelegen.

Im Gebiete der Minima der Strömungsgeschwindigkeit ist die Strömung in ein und demselben Haare sehr unregelmäßig. Diese Inkonstanz zeigt im Minimum der Geschwindigkeit ihr Maximum. In den Maxima der Geschwindigkeit ist die Strömung durch ihre Konstanz ausgezeichnet. (Siehe Fig. 4.)

Es wurde statistisch festgestellt, welcher Prozentsatz der Haare in den einzelnen H-Ionenkonzentrationen keine Plasma-

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

strömung zeigt. Der Prozentsatz der Plasmoptysen wurde selbverständlich abgerechnet.

Ein Vergleich der aus diesen Prozentzahlen interpolierten Kurve mit der Strömungskurve zeigt sofort die Tatsache an, daß der Verlauf der beiden Kurven ein durchaus analoger ist. Die Maxima und Minima sind in denselben p_H-Werten gelegen. Die innere Ursache der Beeinflussung der Strömungsgeschwindigkeit und der Sistierung der Strömung ist offenbar dieselbe. Weiterhin wurden

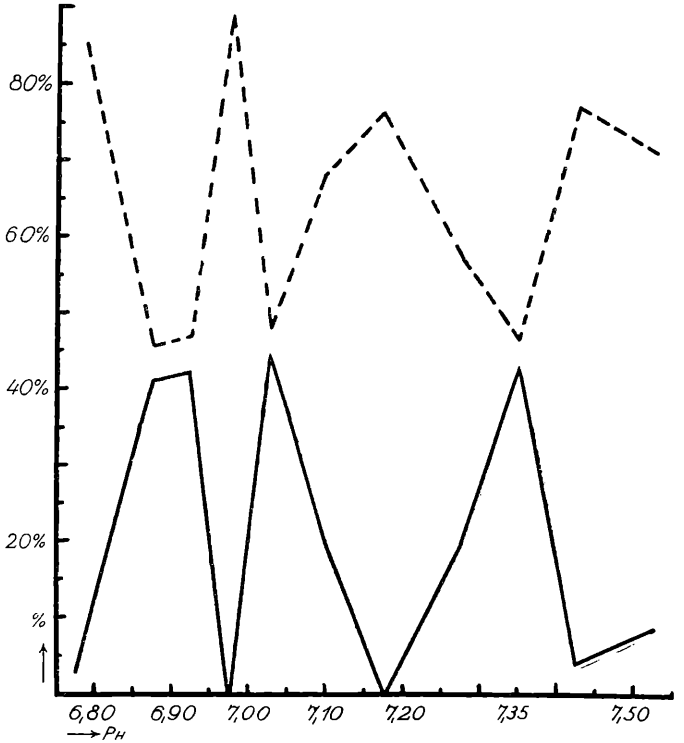

Fig 5. Die Sistierung der Plasmaströmung durch die Wasserstoffionen ——— = Prozentsatz der Haare, welche keine Strömung zeigen, - - - - = Prozentsatz der Haare, welche Strömung zeigen.

auch die Prozentzahlen der Haare, welche Strömung zeigten, bestimmt. Diese Kurve ist das genaue Spiegelbild der beiden anderen Kurven. (S. Fig. 5.)

Über weitere Beziehungen soll in der Diskussion berichtet werden.

Analog den morphologischen Studien wurden die im ersten Teile angestellten Acetatversuche mit Phosphatgemischen wiederholt. Das Ergebnis dieser Versuche war folgendes: Die Phosphatgemische beeinflussen die Strömungsgeschwindigkeit im p_H-Bereiche 5·60 bis 6·80 im prinzipiell gleicher Weise wie die Acetatgemische. Minima und Maxima liegen in denselben p_H-Bereichen.

III. Plasmoptyse.

Lopriore (1895) und Klemm (1895) untersuchten das Platzen von Pollenschläuchen und Wurzelhaaren, hervorgerufen durch Säuren. Lopriore fand auch oft sehr große Anschwellungen von Pilzhyphen, verursacht durch CO_2-Wirkung. An Pollenschläuchen konnte dieser Autor die Feststellung machen, daß der osmotische Wert nicht durch Kohlensäurewirkung verändert werde. Pantanelli (1905) stellte fest, daß nicht nur Säuren dieses Platzen hervorrufen können, sondern auch andere Stoffe, insbesondere Narkotika. Er unterscheidet verschiedene Arten der Explosion, die osmotische und anosmotische.

Coupin (1909) gibt an, daß die Wurzelhaare an der Spitze platzen, wenn man sie in Wasser bringt. Er sagt allerdings nicht, ob das Wasser rein war. Man muß vielmehr in diesem Falle annehmen, daß die C_H des verwendeten Wassers das Platzen verursacht hat. Erst Úlehla und Moravek (1923) führten in dieser Frage die ersten quantitativen Untersuchungen durch. Demeter (1924) untersuchte die Plasmoptysen der Hyphen der endotrophen Mykorrhiza von Vinca in den Wirtszellen und bezeichnete eine derartige Mykorrhiza als »Plasmoptysen-Mykorrhiza« (Arbuskel-Bildung). Es handelt sich also bei der Plasmoptyse auch um einen biologisch wichtigen Vorgang, wie es auch Úlehla und Moravek (1923) an *Basidiobolus ranarum* zeigen konnten.

Brinley (1927) gibt in seinen Studien über das Eindringen des Cyanwasserstoffes in die Zellen an, daß die Wurzelhaare von *Limnobium* nach der Sistierung der Plasmaströmung durch das HCN in Wasser gebracht anschwellen und platzen. Er erklärt diesen Vorgang durch eine Änderung der Permeabimität. Es könnte auch möglich sein, daß die Azidität des verwendeten Wassers dafür verantwortlich zu machen sei.

Im ersten Teile meiner diesbezüglichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß in Acetatgemischen die Plasmoptysen maximal in denjenigen Wasserstoffionenkonzentrationen auftreten, in denen das Protoplasma am stärksten geschädigt wird, also im Gebiete des sek. Vak. St.

Schon die Vorversuche mit Phosphatgemischen lehrten, daß die Plasmoptysen in solchen Gemischen in ganz anderer Weise beeinflußt werden. In den p_H-Bereichen, in denen das Plasma am wenigsten von den H-Ionen verändert wird, traten die Plasmoptysen am auffallendsten hervor. Dieses Ergebnis drängte zu einer zahlenmäßigen Verfolgung dieser Verhältnisse. In nebenstehender Kurve (Fig. 6) sind die Ergebnisse übersichtlich zusammengefaßt.

Die Plasmoptysen treten also in Phosphatgemischen maximal in denjenigen H-Ionenkonzentrationen auf, in denen die Ausflockung des Protoplasmas am minimalsten ist. Das größte Maximum liegt zwischen p_H 7·10 bis 7·25, also in Konzentrationen, in denen überhaupt sonst keine Veränderungen des Protoplasmas feststellbar

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

sind. Hier ergibt sich zum ersten Male eine starke Verschiedenheit der Reaktion der Wurzelhaare zwischen der Einwirkung von Phoshatgemischen und Acetatgemischen.

Die Art und Weise des Vorganges der Plasmoptyse ist selbstverständlich von dem jeweiligen physiko-chemischen Zustande des Protoplasmas abhängig. In dieser Beziehung kann ich die Beobachtungen Úlehla's und Moravek's (1923) nur bestätigen. Wenn das Platzen der Haare in einer Wasserstoffionenkonzentration stattfindet, in welcher das Plasma stark ausflockt, so tritt das Platzen erst nach einiger Zeit ein. Im Dunkelfelde bei starker Vergrößerung konnte ich beobachten, wie vor der eigentlichen Explosion sich ein ganz kleiner Riß an der Spitze des Haares bildet, aus dem eine kleine Plasmaportion hervorquillt. Plötzlich erfolgt an dieser Stelle

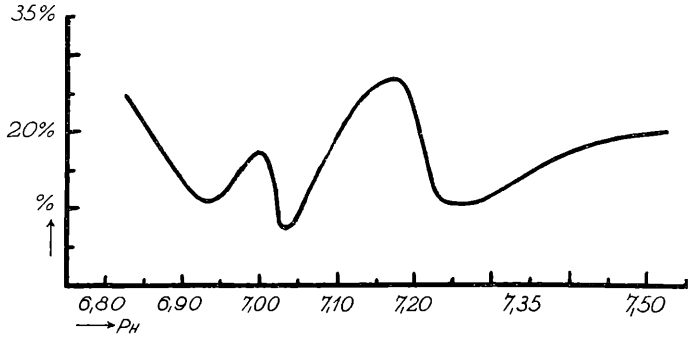

Fig. 6. Die Abhängigkeit des Auftretens der Plasmoptysen von der H-Ionenkonzentration (Phosphatgemische).

die Explosion. Fischer (1906) sah an *Vibrio proteus* in saurem Substrat auch eine ähnliche Erscheinung. Er konnte ein kleines Plasmakügelchen aus dem *Vibrio* austreten sehen. In Konzentrationen, in denen die Plasmoptyse nicht rasch eintrifft, ist bereits vorher eine deutliche H-Ionenwirkung (sek. Vak. St.) zu beobachten. Es trifft sonach die Behauptung Lloyd's (1917) nicht ganz zu, die besagt, daß vor dem Eintreten der Plasmoptyse sonst keinerlei Einwirkung des betreffenden Mediums sichtbar sei.

In solchen Wasserstoffionenkonzentrationen, in welchen das Plasma nicht ausflockt, tritt die Plasmoptyse oft spontan ein. Das hinausgeschossene Plasma bleibt auch im Puffergemisch dünnflüssig, und es macht den Eindruck, als ob es außerhalb des Haares noch einige Zeit weiterleben würde. In solchen Konzentrationen dagegen, in denen das Plasma geschädigt wird, bildet es im Medium ein hell aufleuchtendes Gerinsel (vgl. Úlehla und Moravek 1923).

Eine Beobachtung verdient an dieser Stelle besonders hervorgehoben zu werden. In p_H $7 \cdot 10$ bis $7 \cdot 20$, also in Konzentrationen, in denen das Plasma überhaupt nicht sichtbar beeinflußt wird, konnte ich sehr häufig beobachten, daß in Haaren nach dem Auftreten der Plasmoptyse das Plasma noch regelmäßige Plasmaströmung zeigte.

Diese Strömung dauerte oft noch 10 Minuten nach der Explosion an. Es interessierte zunächst, ob in solchen Haaren der Zellkern noch vorhanden ist oder nicht. Färbeversuche zeigten, daß bei der Plasmoptyse der Zellkern herausgeschossen wird.

Sonach wäre die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß es sich in diesem Falle um eine Protoplasmaströmung kernloser Zellen handeln könnte. Jedenfalls muß dieser Fall noch eingehend untersucht werden.

Bezüglich weiterer Zusammenhänge theoretischer Natur verweise ich auf die Diskussion.

IV. Diskussion.

Michaelis wies vor kurzem auf einen vielfach begangenen Irrtum in bezug auf die H-Ionenwirkung hin.[1] Nachdem durch ihn und andere Forscher der Beweis erbracht war, daß die Wasserstoffionen einen großen Einfluß auf die verschiedensten Vorgänge ausüben, sei von vielen Forschern in dieser Hinsicht eine starke Übertreibung begangen worden. So z. B. bei der Wirkung der Fermente, bei der Ausflockung der Kolloide, Kataphorese u. a. Man schrieb nämlich diese Wirkungen vielfach ausschließlich nur den Wasserstoffionen zu. Anderseits ist es doch jedem Kolloidchemiker bekannt, daß z. B. Pikrinsäure auf Leim anders wirkt als Salzsäure. Es gibt aber Kationen und Anionen, deren Wirkung wesentlich schwächer ist als die der H-Ionen. Michaelis führt nun als Beispiel das Acetat-Essigsäure-Puffergemisch an. In diesem Puffergemisch variiert nur die Essigsäure. Das Acetat ist konstant und fungiert als Parameter. Unter Anwendung dieses Gemisches ist es möglich, z. B. das von der C_H allein abhängige Flockungsoptimum (isoelektrischer Punkt) von denaturiertem Albumin oder Kasein zu ermitteln, welches einem bestimmten p_H-Wert entspricht. Variiert man nun die Konzentration des Acetats, also des Parameters, so zeigt es sich daß die Lage des Flockungsoptimums in weiten Grenzen vom Parameter unabhängig erscheint. Von 1 Mol-Acetat abwärts bis zu 0·1 Mol finden nur kleine Verschiebungen statt. Von 0·1 Mol bis zu den praktisch kleinsten Konzentrationen etwa 0·001 Mol ist die Lage des Flockungsoptimums konstant. Wir haben hier den Fall vor uns, daß zwar die Acetat- und die Na-Ionen einen schwachen Einfluß haben, aber sie können mit den viel stärker kolloidaktiven Wasserstoffionen nicht konkurrieren. Anderseits führt Michaelis an, daß gleiche Versuche mit Citrat als Parameter ein ganz anderes Flockungsoptimum ergeben. Hier haben wir den Fall vor uns, daß andere An- und Kationen einen ganz wesentlichen Einfluß auf die Lage des isoelektrischen Punktes eines Kolloides ausüben und daß ihre Wirkung neben der Wasserstoffionenwirkung keinesfalls vernachlässigt werden darf.

[1] Ich entnehme hier einige Gedankengänge aus einem Briefe von Michaelis, der im Düsseldorfer Heft der Kolloidzeitschrift veröffentlicht ist.

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

In Versuchen mit Acetatgemischen, wie sie im Anschluß an Michaelis im ersten Teile dieser Schrift verwendet wurden, haben wir es nun tatsächlich mit der Einwirkung der Wasserstoffionen zu tun. Gleichgültig, ob die Wirkung der H-Ionen primär oder sekundär vor sich geht.

Die im ersten Teile meiner Untersuchungen erhaltene Flockungskurve des Protoplasmas ist in diesem Sinne wohl als Folge der Wasserstoffionenwirkung zu bezeichnen.

Wie steht es nun in dieser Hinsicht bei Anwendung von Phosphatgemischen?

Im p_H-Bereich 6·80 bis 7·55 wurden die Gemische derartig hergestellt, daß die Konzentration des sekundären Kaliumphosphates konstant war, also als Parameter fungierte, während durch gesetzmäßiges Variieren der Konzentration des primären Kaliumphosphates die entsprechenden p_H-Werte erreicht wurden. Auf diese Weise konnte ein übermäßiger Einfluß der übrigen Ionen vermieden werden. Außerdem stellte ich noch sehr wichtige Kontrollversuche an. Wie schon früher besprochen, versuchte ich die Frage zu beantworten, ob die Phosphatgemische im p_H-Bereiche 5·60 bis 6·80 auch die gleiche Flockungskurve des Protoplasmas zeigen als die Acetatgemische. Der Kernpunkt, um den es sich bei diesen Versuchen handelte, war der, ob bei Phosphatgemischen die übrigen Ionen eine bedeutende Interferenzwirkung gegenüber den Wasserstoffionen ausüben oder nicht. Zunächst wurden Versuche mit Gemischen durchgeführt, in denen die beiden Komponenten (primäres und sekundäres Kaliumphosphat) gleichmäßig vertreten waren. Das Ergebnis war sowohl prinzipiell als auch quantitativ ein gleiches wie bei den analog durchgeführten Versuchen mit dem Acetatgemisch.

Als zweite Versuchsreihe wurden Phosphatgemische angewendet, in denen die eine Komponente (sek. Kaliumphosphat) in sehr geringer Konzentration verwendet wurde, während die andere Komponente in einer entsprechend höheren Konzentration zugegen war. Das Resultat dieser Versuchsreihe zeigte, daß solche Gemische zwar qualitativ die gleiche Flockungskurve ergeben, es traten jedoch gegenüber den Versuchen mit Acetatgemischen kleine quantitative Verschiedenheiten auf.

Hier haben wir den Fall vor uns, daß zwar die Wirkung der Wasserstoffionen zweifellos dominierend ist und daß durch die Wasserstoffionenkonzentration allein das Flockungskurvenbild zustandekommt, daß aber auch die übrigen An- und Kationen je nach der Zusammensetzung des angewandten Gemisches einen interferierenden Einfluß auf die Lage der Flockungsoptima haben.

Wenn den Anionen des angewendeten Puffergemisches auch eine bedeutende Interferenzwirkung zukommen sollte, so würden die Resultate doch relativ richtig sein. Es haben ja die Parallelversuche den Beweis erbracht, daß in unserem Falle die Wirkung der ürigen Ionen fast vernachlässigt werden kann.

Die beobachteten Veränderungen des Plasmas sind daher in erster Linie Veränderungen, welche durch die zweifellos dominierenden Wasserstoffionen hervorgerufen werden.

Andererseits zeigen die Versuche, daß auch die Anionenwirkung keinesfalls vernachlässigt werden darf. Ich verweise nur auf die Ergebnisse in bezug auf die Plasmoptyse. In den Kaliumphosphatgemischen tritt die Plasmoptyse viel häufiger ein als in den Acetatgemischen. In diesem Falle ist wohl das Kaliumion für die Verschiedenheit der Wirkungen verantwortlich zu machen.

Bei Betrachtung der Art und Weise der Veränderungen der morphologischen Struktur des Plasmas durch die H-Ionen fällt in erster Linie die Vermehrung der Mikrosomen auf. Diese Vermehrung der Körnchen kann in zwei Vorgängen ihre Ursache haben. Die naheliegendere Erklärung ist, daß ganz analog dem Vorgange der Ausflockung irgend eines Kolloides durch die elektrische Entladung der Plasmakolloide neutrale Kolloidpartikelchen entstehen und daß diese sich agglutinieren und so im Dunkelfelde sichtbar werden. Es ist dies der Vorgang wie er bei der milchigen Ausflockung eines hydrophilen Kolloides bekannt ist.

Die andere Erklärung fußt auf einer theoretischen Anschauung Lepeschkin's (1924). Dieser Forscher vertritt in seiner Kolloidchemie des Protoplasmas die Anschauung, daß im Protoplasma ein Großteil der Eiweißkörper mit den Lipoiden zu einer labilen Verbindung, den Lipoproteiden vereinigt sind. Diesen Lipoproteiden kommt im hohen Maße die Eigenschaft der Labilität zu. Durch chemische Einwirkungen, durch mechanische Reize und durch physikalische Wirkungen sollen sie nach Lepeschkin in Lipoide und in Proteide zerfallen. Auch aus dieser Theorie könnte man die Zunahme des Tröpfchengehaltes des Plasmas zwanglos erklären.

Bereits Bokorny (1888) konnte eine derartige Mikrosomenbildung im Plasma von Wurzelhaaren durch Einwirkung von Basen beobachten.

Bei einer näheren Untersuchung der Mikrosomen im Dunkelfelde kommt man bald zur Überzeugung, daß dieselben nicht alle gleichartig sind. A. Mayer unterscheidet u. a. in Allinante und Volutinante ein. Auch Lepeschkin beobachtete Mikrosomen, deren optisches Verhalten verschieden ist. Wahrscheinlich ist ein Teil fester Natur, wobei es sich um Eiweißkörper handelt, ein anderer Teil ist zweifellos flüssig. A. Mayer gelang es im Protoplasma der jungen Blattzellen von *Tradescantia discolor* kleine stark lichtbrechende Tröpfchen zu beobachten, welche zusammenfließen können und sich mit Sudan III färben. In vorliegenden Untersuchungen konnten ebenfalls oft größere Öltröpfchen beobachtet werden. Die Annahme, daß ein Teil der Mikrosomen aus Lipoiden besteht, ist wohl nicht von der Hand zu weisen.

Existiert die hypothetische Verbindung der Lipoproteide, so wird ihr Zerfall wohl auch zur Mikrosomenbildung beitragen.

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Als zweite durch die H-Ionen hervorgerufene Erscheinung tritt in allen Versuchen eine oft sehr bedeutende Volumszunahme des Protoplasmas auf. Dabei dürfte es sich wohl um ein Quellungsphänomen handeln. Brenner (1918) und auch Ülehla (1923) konnten eine quellende Wirkung der H-Ionen beobachten. Brenner spricht direkt von einer Volumszunahme des Plasmas auf Kosten der Vakuolen. Die im ersten Teil dieser Schrift durchgeführten Versuche bestätigen diese Beobachtung. Lepeschkin (1924) erklärt die Befunde Brenners mit Hilfe des Donnan'schen Gleichgewichtes. Gegen eine solche Erklärung sprechen aber meine Befunde (Strugger 1926), nach welchen auch durch Äther- und Chloroformwirkung ebenfalls eine der Säurewirkung ganz analoge Volumszunahme des Protoplasmas beobachtet werden konnte. Falls es sich in diesen Fällen um den gleichen Vorgang handelt, würde diese Erklärung Lepeschkins nicht stichhältig sein.

Wenden wir uns zur Besprechung der drei oben unterschiedenen morphologischen Grundstadien.

Im pr. Vak. St. ist das Plasma normal und befindet sich in einer sehr raschen und gleichmäßigen Rotationsströmung. Beim Eintritt des Üb. St. verschwindet die apikale Vakuole und an ihrer Stelle ist die ganze Spitze des Haares mit Protoplasma erfüllt. Was mit den Inhaltsstoffen der Vakuole geschieht und wie dieses Verschwinden zu erklären ist, muß vorläufig offen gelassen werden. Cholodnyi (1923) beschreibt auch eine Anhäufung des Protoplasmas an der Spitze von *Trianea*-Wurzelhaaren, hervorgerufen durch die Einwirkung verschiedener Metallsalze. Offenbar besteht hier ein Zusammenhang mit den vorliegenden Befunden. Im Üb. St. ist die Plasmaströmung noch sehr rasch.

Tritt nun bei stärkerer H-Ionenwirkung das sek. Vak. St. auf, so wird die Strömung in den Haaren entweder ganz sistiert oder sie wird langsam und unregelmäßig. Hand in Hand mit dieser Sistierung der Strömung geht auch eine bedeutende Zunahme des Plasmavolumens und der Körnchenzahl vor sich. Die Konturen des wandständigen Plasmaschlauches werden unregelmäßig, klumpenförmige Gebilde sind häufig zu beobachten. Wenn solche Plasmaklumpen, die nach Klemm (1895) oft gekröseförmig aussehen, agglutinieren, so bilden sie durch vollständiges Verschmelzen mit dem wandständigen Plasma die für das sek. Vak. St. charakteristischen Plasmaquerbrücken. Solche gekröseartige Klumpen wurden von vielen Autoren beobachtet. Klemm (1895) beschrieb das Auftreten solcher Bildungen bei Säurebehandlung. Addoms (1923) konnte sie beobachten, desgleichen Brenner (1918) und Ülehla (1923). Auch Cholodnyi (1923) beschreibt derartige Bildungen, hervorgerufen durch Metallsalzwirkung.[1]

Wir sehen nun, daß jedes dieser drei morphologischen Grundstadien einer ganz bestimmten markanten Phase der physiko-

[1] Es dürften auch Beziehungen bestehen zu den Beobachtungen Lepeschkin's (1925) über die Fäden und Plasmastränge der Pflanzenzellen.

chemischen Veränderung des Protoplasmas entspricht. In der genauen morphologischen Charakterisierung dieser drei Stadien liegt das methodische Hauptgewicht meiner ganzen Untersuchung. Darin unterscheiden sie sich prinzipiell von anderen ähnlichen Untersuchungen.

Die Kurve des sek. Vak. St. ist zugleich auch die Ausflockungskurve. Ihre Optima und Minima geben uns markante Stadien der physiko-chemischen Beeinflussung des Plasmas wieder. In den Optima dieser Kurve ist die Koagulation des Protoplasmas am stärksten zu beobachten. In den Minima ist das Plasma optisch am leersten. In der Zone der Optima ist das Plasma in einem gelartigen Zustande. Es konnte oft nicht einmal eine Brown'sche Molekularbewegung der Mikrosomen beobachtet werden. Wie schon meine Reversibilitätsversuche zeigten (I. Teil), besteht hier eine Ähnlichkeit mit der reversiblen Gelbildung, wie sie von Herwerden (1925, 1926) an tierischen Zellen beschrieben wurde. Durch die elektrische Beeinflussung der Kolloide wird auch die Hydratation tiefgreifend verändert. Die Kurven des pr. Vak. St. und des Üb. St. stehen in einer strengen Abhängigkeit von der Ausflockungskurve. Ihr gesetzmäßiger Ablauf gibt uns eine Kontrolle für die Richtigkeit der Versuche in die Hand. Aus obiger Überlegung heraus wird es auch verständlich, daß die Geschwindigkeitskurve der Plasmaströmung in ihrem Verlaufe völlig identisch ist mit der Ausflockungskurve. Aus dem Gesamtbild der Kurven können wir nun folgende Gesetzmäßigkeit herauslesen: Um die Kurve des sek. Vak. St. gruppieren sich die Plasmaströmungskurve und das Diagramm der Prozentzahl der Haare, welche keine Plasmaströmung zeigen, und die Kurve des Üb. St. Abhängig von der Ausflockungskurve, aber dieser gegenläufig, ist das Diagramm der Haare, welche Plasmaströmung zeigen, und die Kurve des pr. Vak. St. Der Verlauf aller dieser Diagramme ist von den physiko-chemischen Zustandsänderungen abhängig, die uns in oben besprochener Weise sowohl die Kurve des sek. Vak. St. als auch die Protoplasmaströmungskurve wiedergeben.

Nur das Plasmoptysendiagramm (Fig. 6) fällt aus diesem Rahmen fast vollständig heraus. Es zeigt zwei stärker ausgeprägte Optima, von denen das erste auf einen absteigenden Teil und das zweite auf das im schwach alkalischen Gebiet gelegene tiefe Minimum der Ausflockungskurve fällt. Daraus folgt, daß die Plasmoptyse nicht in einem so engen Zusammenhang mit den physikalisch-chemischen Zustandsänderungen des Plasmas steht wie die übrigen beobachteten Erscheinungen.

Für das Platzen der Haare kommt eben nicht nur der Protoplast allein in Betracht, sondern auch die Zellmembran. Es dürfte der eigentümliche Verlauf dieses Diagrammes darin seine Ursache haben, daß das Auftreten der Plasmoptyse in erster Linie von physiko-chemischen Zustandsänderungen der Zellmembran abhängig ist. Diese Auffassung sprachen bereits Úlehla und Moravek (1922) aus. Auch Lloyd und Úlehla (1926) machen für die Plasmoptysen

© Verlag Akademie der Wissenschaften, Wien; download unter www.biologiezentrum.at

die Zellmembran verantwortlich. Die Auffassung Stern's (1919), daß es sich beim Plasmoptysenphänomen um die Folge einer negativen Osmose handelt, erscheint mir nicht ganz stichhältig, da ja auch Narkotica Plasmoptyse hervorrufen (Pantanelli 1905, Strugger 1926). Für diese Anschauung ergab sich aber noch ein wichtiges Argument. Wie schon früher erwähnt, trat die Plasmoptyse in den Versuchen mit den Acetatgemischen immer am markantesten in den Flockungszonen auf; in den Phosphatgemischen dagegen hauptsächlich bei H-Ionenkonzentrationen, in denen das Plasma am normalsten war. Die Flockungskurve ist in beiden Gemischen gleich geblieben. Auch aus dieser Tatsache lassen sich die gleichen Folgerungen ableiten. Untenstehende schematische Skizze veranschaulicht dieses Ergebnis in übersichtlicher Weise (Fig. 7). Bei

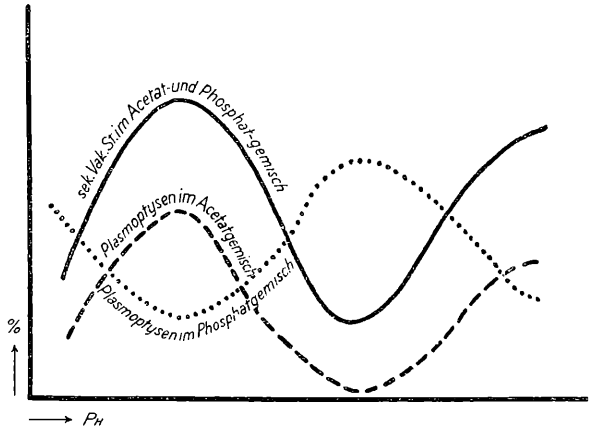

Fig. 7. Schematische Darstellung des verschiedenen Auftretens der Plasmoptysen in Acetat- und Phosphatgemischen.

der Erklärung dieser Erscheinung kommt man über die Zellmembran nicht hinweg. Ob dabei den Anionen ein stärkerer Einfluß zukommt oder nicht, das ist schließlich eine sekundäre Frage.

Die vorliegenden Versuche haben weiterhin gezeigt, daß zwischen der Wasserstoffionenkonzentration und den Veränderungen des physiko-chemischen Zustandes des Plasmas keine einfache Abhängigkeit besteht, sondern daß auf eine stufenweise Änderung der C_H im p_H-Bereiche $5 \cdot 60$ bis $7 \cdot 55$ diese Veränderungen des Plasmas in Form einer fünfgipfeligen Kurve vor sich gehen. Die ersten zwei Gipfel ergaben sich im sauren Bereich. (S. I. Teil.) Drei weitere Ausflockungszonen konnten in vorliegenden Untersuchungen festgelegt werden. Im Zusammenhange mit dieser Feststellung kommen einige sehr interessante Ergebnisse anderer Autoren in Betracht.

Kihara (1923) konnte bei vergleichenden Untersuchungen über das Pollenplasma von *Triticum*-Arten dreigipfelige Kurven feststellen.

Sakamura und Loo (1925) untersuchten die Abhängigkeit der Viskositätsveränderungen des Plasmas von *Spirogyra* von der

© Verein zur Förderung des Open Access Publizierens in den Naturwissenschaften, download unter www.biologiezentrum.at

Wasserstoffionenkonzentration mit Hilfe der Zentrifugierungsmethode. Die Ergebnisse dieser Forscher sind weitaus als wichtigste in bezug auf vorliegende Ergebnisse zu werten. Die Untersuchungen beziehen sich auf den p_H-Bereich 4·70 bis 7·60; sie bewegen sich also im gleichen Bereiche wie meine Untersuchungen. Das Ergebnis war in allen Versuchen eine zwei- oder dreigipfelige Kurve. Die Verflüssigungs-, beziehungsweise die Verfestigungspunkte des Protoplasmas zeigten je nach der Jahreszeit geringe Verschiebungen (siehe auch den ersten Teil dieser Arbeit). Von ganz besonderer Bedeutung ist die Tatsache, daß diese Forscher auch um den Neutralpunkt, also ganz analog meinen Ergebnissen starke Veränderungen des physiko-chemischen Zustandes des Plasmas durch die Wasserstoffionen konstatieren konnten.

Es ist gewiß wichtig, daß man durch zwei ganz heterogene Methoden zu einem ähnlichen, beziehungsweise gleichen Resultat gekommen ist.

Hopkins (1926) fand bei der Abhängigkeit der Bewegung von *Amoeba proteus* von der Wasserstoffionenkonzentration auch kein lineares Diagramm, sondern eine zweigipfelige Kurve.

Lloyd und Úlehla (1926) studierten die Abhängigkeit der Dickenzunahme von Geweben (Meeresalgen) von der Verdünnung des Meerwassers mit Hilfe der auxographischen Methode. Das Ergebnis waren N- und M-förmige Kurven. Auch hier dürfte ein Zusammenhang mit den vorliegenden Ergebnissen zu suchen sein.

Kurz vor dem Abschluß dieser Schrift wurde mir die Arbeit von Farr (1927) bekannt.

Farr untersuchte die Abhängigkeit des Längenwachstums der Wurzelhaare von der Wasserstoffionenkonzentration. ($Ca(OH)_2$ in verschiedenen Konzentrationen.) Es zeigten sich 3 Minima, und zwar in p_H 6·9, in p_H 8·9 und in p_H 11·9. Dazwischen, in p_H 8 und in p_H 10, sind die Maxima gelegen. Auch Farr versucht diesen Befund mit Hilfe der Theorie des isoelektrischen Punktes zu erklären.

Besonders durch die Untersuchungen von Pearsall und Ewing (1924) und Robbins (1923, 1924) wurde die Theorie fundiert, daß das Plasma einen isoelektrischen Punkt besitze, der mit dem seines Haupteiweißkörpers wohl übereinstimmt. Sakamura und Loo (1925) wiesen aber darauf hin, daß man mit der Annahme eines einzigen isoelektrischen Punktes auf Grund ihrer Resultate nicht mehr auskommen kann. Die beiden Forscher erklärten das eigentümliche Verhalten des Plasmas dadurch, daß sie getrennte isoelektrische Punkte der einzelnen Plasmabestandteile annahmen und von einer gegenseitigen schutzkolloiden Wirkung der einzelnen Plasmabestandteile sprechen.

Bei der theoretischen Erklärung meiner Ergebnisse schließe ich mich eng an die Auffassung von Sakamura und Loo an. Bei den vorliegenden Ergebnissen handelt es sich wahrscheinlich um eine fraktionierte Fällung der Eiweißkörper, beziehungsweise der

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Eiweißverbindungen des Protoplasmas. Es entspricht jedem Flockungsoptimum ein isoelektrischer Punkt (Zone) eines Eiweißkörpers.

In einem gewöhnlichen Mischkolloid gleichen sich die Ladungen gegenseitig aus. Der Effekt eines solchen Ausgleiches ist die Existenz eines einzigen isoelektrischen Punktes. Offenbar sind aber im Plasma die Ladungen der einzelnen verschiedenen Phasen nicht ausgeglichen, denn sonst wäre ein derartiges Verhalten mit der Theorie der isoelektrischen Punkte des Plasmas nicht zu vereinen.

Das Plasma ist ein Mischkolloid, in welchen auf die einzelnen Phasen schutzkolloide Wirkungen angenommen werden müssen.

Eine andere Erklärung läßt sich nach dem heutigen Stande der Forschung nicht geben. Vollständig diskussionsreif wird diese Frage wohl erst dann sein, wenn auch die Einwirkung von Narkoticis, Salzen und anderen schädigenden Einflüssen auf das Protoplasma von diesem Gesichtspunkte aus durchgeführt sein werden.

Es ergibt sich schließlich aus vorliegenden Ergebnissen notgedrungen noch in methodischer Hinsicht eine Konsequenz. Bei vielen Protoplasmauntersuchungen wurde die Wasserstoffionenkonzentration des Versuchsmediums unberücksichtigt gelassen. Es kann nach vorliegenden Ergebnissen nicht gleichgültig sein, ob ein zellphysiologischer Versuch das einemal bei p_H 6·80, das anderemal bei p_H 6·90 durchgeführt wird. Im ersteren Falle muß das Protoplasma sich in einem ganz anderen physikalisch-chemischen Zustande befinden als im letzteren Falle. Ein ganz besonderer Anlaß zu Fehlerquellen muß es sein, wenn das Medium (analog den meinen Versuchen) plötzlich verändert wird. Eine ständige genaue Kontrolle des H-Ionenfaktors wird wohl bei allen Plasmauntersuchungen unerläßlich sein.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

In vorliegender Arbeit wurde die Einwirkung der Wasserstoffionen auf das Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare* L. um den Neutralpunkt (p_H 6 80 bis 7·55) untersucht; die Beobachtung wurde im Dunkelfelde vorgenommen.

Es ergab sich, daß die Wasserstoffionen auf das Plasma auch im Bereiche des Neutralpunktes eine erhebliche Wirkung ausüben. Die Veränderungen des Protoplasmas gehen in vollständig gleicher Weise vor sich, wie sie im ersten Teile dieser Schrift eingehend erörtert wurden. Die quantitativ statistische Untersuchung zeitigte das Ergebnis, daß die charakteristischen Veränderungen des Plasmas, wie die Mikrosomenvermehrung, Volumsvergrößerung und der damit verbundene Wechsel des morphologischen Bildes, in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration in drei verschiedenen Bereichen Maxima aufweisen, so daß sich, graphisch dargestellt, eine dreigipfelige Kurve ergibt.

Es konnten sonach drei Ausflockungsmaxima festgestellt werden, und zwar: in p_H 6·85 bis 6 90 das erste, in p_H 7·00 bis 7·05 das zweite und in p_H 7·35 das dritte. In schwach alkalischem Bereich (p_H 7·10 bis 7·20) ist überhaupt keine sichtbare Veränderung des Plasmas durch die H-Ionen zu beobachten.

Weiterhin wurde die Abhängigkeit der Protoplasmaströmungsgeschwindigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration im gleichen p_H-Bereiche studiert. Es kam die gleiche Messungsmethode, wie sie im ersten Teil verwendet wurde, zur Anwendung.

Es konnten ebenfalls drei Minima der Strömungsgeschwindigkeit beobachtet werden.

Das erste Minimum in p_H 6·85 bis 6·90, das zweite in p_H 7·00 bis 7·05 und das dritte ist in p_H 7·35 gelegen.

Es treten also den morphologischen Veränderungen ganz analoge Verhältnisse auf. Auch der Prozentsatz der Haare mit sistierter Protoplasmaströmung ergibt das gleiche dreigipfelige Diagramm.

Es wurden einige Beobachtungen über die Plasmoptyse niedergelegt, wobei insbesondere einige experimentelle Hinweise auf die Mitbeteiligung der Zellmembran an dem Zustandekommen der Plasmoptyse gewonnen werden konnten.

Vergleichende Kontrollversuche mit verschiedenen Puffern (Acetatgemisch und Phosphatgemisch) haben ergeben, daß die Qualität der Veränderungen (Mehrgipfeligkeit der Kurvenbilder) einzig und allein durch die Konzentration der H-Ionen bedingt ist, wobei aber die interferierende Wirkung der Anionen in bezug auf die Quantität der Veränderungen und der Plasmoptyse nicht ganz vernachlässigt werden darf.

Anschließend an die theoretische Auffassung, wie sie in der Arbeit von Sakamura und Loo (1925) niedergelegt ist, wird eine Erklärung für die periodische Ausflockung des Protoplasmas gegeben. Mit der Annahme eines einzigen isoelektrischen Punktes kommt man bei der Erklärung nicht mehr aus. Jedem Flockungsoptimum entspricht ein isoelektrischer Punkt einer kolloiden Phase des Protoplasmas. Wobei die Annahme gemacht werden muß, daß die einzelnen Phasen des Protoplasmas untereinander kolloid geschützt sind.

© Verlag Akademie der Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Literatur.

Addoms, R. M. (1923), The effect of the hydrogen ion on the protoplasm of the root hairs of wheat. Am. journ. Botany, 1923, 10, 211.

Arrhenius, O. (1926), Bodenreaktion und Pflanzenleben mit spezieller Berücksichtigung des Kalkbedarfs für die Pflanzenproduktion; Leipzig 1926.

Bělehrádek, Jan. (1924 25), La viscosité du protoplasma vivant et ses rapports avec l'activité et le vieillissement cellulaire, Publ. Fac. Méd., Brno, Tome, III., 1.

Bokorny, Th. (1888). Über die Einwirkung basischer Stoffe auf das lebende Protoplasma. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., 19., p. 206.

Brenner, W. (1920), Über die Wirkung von Neutralsalzen auf die Säureresistenz, Permeabilität und Lebensdauer der Protoplasten. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 38, p. 277

— (1918), Studien über die Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen. Oefversigt af Finska Vedensk-Soc. Förhandl, Bd. 40, Aft A, Nr. 4.

Brinley, J. F. (1927), Penetration of Hydrogen Cyanide into living cells. Protoplasma, Bd. II, p. 385.

Cholodnyi, N. (1923), Zur Frage über die Beeinflussung des Pflanzenplasmas durch mono- und bivalente Metallionen. Beih. z. bot. Zentr.-Blatt, Abt. I, Bd. 39, p. 231.

Coupin, H. (1909), Sur la cytologie et la teratologie des poiles absorbants. Rev. gén. de Bot., Tome 21.

Demeter, K. (1923), Über »Plasmoptysen«-Mykorrhiza, Flora, Bd. 116, p. 405.

Farr, H. C. (1927), Studies on the growth of root hairs in solutions, III., The effects of concentrations of $CaCl_2$ and $Ca(OH)_2$. American Journal of Botany Vol. 14. No. 10, p. 553.

Fischer, A. (1906), Über Plasmoptyse bei Bakterien. Berichte d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 24, p. 55.

Fitting, H. (1927), Über »Chemodinese«. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., Bd. 67 H. 3, p. 427

Hauptfleisch, P. (1892), Untersuchungen über die Strömung des Protoplasmas in behäuteten Zellen. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., Bd. 24, p. 173.

Herwerden, M. A. van (1924), Umkehrbare Gelbildung in den Zellen eines mehrzelligen Organismus. Biol. Zentralblatt, Bd. 44, p. 579.

— (1927), Umkehrbare Gelatinierung durch Temperaturerhöhung bei einer Süßwasser Amoebe. Protoplasma, Bd. 2, H 2, p. 271.

Hopkins, D. L. (1926), The effect of hydrogen ion concentration on locomotion and other life-processes in Amoeba proteus. Proc. Nation. Acad., Sc. Vol. 12.

Jurišić, P. J. (1925), Die Geschwindigkeitsänderung der Protoplasmaströmung den Pflanzenzellen. Acta botanica, Zagreb, Bd. I.

Kihara, H. (1923), Journ. Society Agric. Forest., Sapporo Year 15 (Japanisch). Ref. englisch im Japanese journ. Bot. Vol. 2, 1924.

Klemm, P. (1895), Desorganisationserscheinungen der Zelle. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot.. Bd. 28, p. 627.

Lepeschkin, W. W. (1924), Kolloidchemie des Protoplasmas. Springer, Leipzig.

— (1925), Über den Aggregatzustand der protoplasmatischen Fäden und Stränge der Pflanzenzellen. Berichte der Deutsch. Bot. Ges., Bd. 43, p. 21.

— (1926), Über metabolisierte Schichten des Protoplasmas der Pflanzenzellen. Berichte der Deutsch. Bot. Ges., Bd. 44, p. 7.

Lloyd, E. F. (1917), The effect of acids and alkalis on the growth of the protoplasma in pollen tubes. Memoirs of the Torry botanical Club. Vol. 17, p. 84.

Lopriore, G. (1895), Über die Einwirkung der Kohlensäure auf das Protoplasma der lebenden Pflanzenzelle. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., Bd. 28, p. 531.

Mayer, A. (1920), Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere, I. Teil. Gustav Fischer, Jena.

Michaelis, L. (1915), Wasserstoffionenkonzentration. Springer, Leipzig.

— (1926), Brief an W Oswald, publiziert in der Kolloid. Zeitschrift, Bd. 40. Düsseldorfer Heft.

Paál, A. (1913), Temperatur und Variabilität in der geotropischen Reaktionszeit. Berichte der Deutsch. Bot. Ges., Bd. 31, p. 122.
Pantanelli, E. (1905), Contribuzioni alla mecanica dell'accrescimento. II. L'explosione delle cellule vegetali. Anali di Botanica, Vol II. Fase. 2, p. 297.
Pearsall, W. H. and Ewing, J. (1924), The isoelectric points of some vegetable proteins. Biochem. Journal, 18, p. 2.
— (1924) b, New Phytologist, Vol. 23.
Robbins, W J. (1923). An isoelectric point for plant tissue and its significance. Amer. Jour. of Bot. 10, p. 412.
— (1924), Isoelectric points for the mycelium of fungi. Journ. Gen. Physiol. 6, p. 259.
Sakamura, T. und Tsung-Le-Loo (1925), Über die Beeinflussung des Pflanzenplasmas durch die H-Ionen in verschiedenen Konzentrationen. Bot. Mag. Tokio, Vol. XXXIX, Nr. 460, p. 61.
Stern, K. (1919), Über negative Osmosen und verwandte Erscheinungen. Berichte der Deutsch. Bot. Ges., Bd. 37.
Strugger, S. (1926), Untersuchungen über den Einfluß der Wasserstoffionen auf das Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare* L. I. Sitzungsberichte d. Akad. d. Wissenschaften Wien. Math.-naturwiss. Kl., Abt. I, Bd. 135, H. 10, p. 453.
Úlehla, V. (1923), Über den Einfluß der Wasserstoffionen auf einige niedere Pflanzen. Studia Mendeliana, Brno.
— und Moravek V. (1923), Über die Wirkung von Säuren und Salzen auf *Basidiobolus ranarum*. Berichte der Deutsch. Bot. Ges., 40, p. 8. (Vorläufige Mitteilung.)